

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 6月 5日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012 ～ 2012

課題番号：24658274

研究課題名（和文）

土の硬さで植物のアルミニウムストレスを緩和できるか？

研究課題名（英文）

Can soil hardness alleviate aluminium stress in plant?

研究代表者

矢野 勝也 (YANO KATSUYA)

名古屋大学・生命農学研究科・准教授

研究者番号：00283424

研究成果の概要（和文）：本研究は、1）根に対する物理的刺激の有無で根端粘液物質（ムシレージ）の分泌量が変化するか、2）その変化が根端へのアルミニウム集積に影響を与えるか、3）その結果植物のアルミニウムストレスが軽減されるか、を調査した。根に対する物理的刺激の有無を創出するために、水耕・砂耕条件下でトウモロコシを育成した。根端当たりのムシレージ分泌量およびムシレージ分泌能を有する根端の割合のいずれも、水耕よりも砂耕条件で明らかに上昇した。この結果は、根に対する物理的刺激が存在する砂耕条件でムシレージ分泌活性が増加したことを示している。水耕・砂耕条件下のトウモロコシに  $\text{AlCl}_3$  を供与すると、水耕では  $10 \mu\text{M}$  濃度ですでにストレスを誘導できたのに対して、砂耕では  $1000 \mu\text{M}$  以上の濃度が必要であった。つまり、水耕に比べて砂耕ではトウモロコシのアルミニウム耐性が向上したことを示している。水耕・砂耕条件下で成長した根端を採取し、ムシレージを付着した根端と付着していない根端に分け、さらに前者の根端からムシレージを除去した根端の3つに分類した。それぞれの根端に  $1000 \mu\text{M}$  の  $\text{AlCl}_3$  を供与して根端のアルミニウム集積を比較した結果、もともとムシレージを付着していなかった根端で高い集積を確認できた。さらに、もともとムシレージを付着していた根端にムシレージ除去処理を施してもアルミニウム集積に変化が生じなかった。この原因を調べるために、ムシレージ除去根端がムシレージを再分泌する様子を連続的に観測した。その結果、除去後5分以内にムシレージの再分泌を確認し、この素早いムシレージの回復のためにムシレージ除去処理の有無がアルミニウム集積に影響を与えなかったと推察した。

研究成果の概要（英文）：This study was aimed to know 1) physical stimuli to root tips can increase production of root-tip mucilage, 2) such an increase can reduce Al-accumulation in the root tips, and consequently 3) stress impact of Al can be alleviated. To create the presence or absence of the stimuli to roots, maize (*Zea mays* L.) plants were hydroponically grown with or without sand, respectively. Plants grown with sand had numerous root tips with mucilage besides its volume per tip was also larger comparing to ones without sand, indicating that the presence of the stimuli can promote mucilage production. Giving  $\text{AlCl}_3$  at various concentrations, Al injury could occur only at  $10 \mu\text{M}$  without sand but was not fully induced even at  $1000 \mu\text{M}$  with sand, revealing that Al toxicity is alleviated in the presence of the root stimuli. Root tips collected from conditions in the presence or absence of sand were divided into ones with or without mucilage, and then exposed to  $\text{AlCl}_3$  solution at  $1000 \mu\text{M}$ . The tips with mucilage showed lower Al-accumulation than ones without it, suggesting that mucilage could protect the tip against Al. On the other hand, there was no significant difference in Al-accumulation between the tips with mucilage and ones once removed it. To seek the reason for this, the tips once removed mucilage were monitored and

found that visible mucilage could recover within 5 minutes. We have assumed that such a rapid recovery of mucilage is responsible for no significant effect of mucilage removal.

#### 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：作物生態生理学

科研費の分科・細目：環境農学

キーワード：アルミニウムストレス、ムシレージ、根端粘液、圧縮土壌、トウモロコシ

#### 1. 研究開始当初の背景

世界全体の利用可能な耕地面積の約40%は、土壌の pH が5を下回る酸性土壌である。土壌が酸性化すると  $Al^{3+}$  が遊離し、細胞分裂が盛んな根端の生長を特異的に阻害する。こうして根の発育に異常を来した作物は養分や水分欠乏に陥りやすく、その生産性が損なわれる。

酸性土壌と同様に、根の発育を抑制するのが圧縮された緻密な土壌である。耕耘の目的のひとつは硬い土壌を膨軟にすることであり、古くから軟らかい土壌が望ましいとされてきた。これに対して研究代表者らは、酸性土壌を圧縮するとコムギやオオムギの生長が逆に優れる結果を得た。特に根端から分泌される粘液（ムシレージ）が圧縮土壌で増えている様子がうかがわれ、この粘液が根端へのアルミニウム集積を物理的にブロックしているのではないかと考えた。

#### 2. 研究の目的

本研究は、1) 根に対する物理的刺激の大小で根端粘液物質（ムシレージ）の分泌量が変化するか、2) その変化が根端へのアルミニウム集積に影響を与えるか、3) その結果植物のアルミニウムストレスが軽減されるか、の3つの観点から検証することを目的とした。

#### 3. 研究の方法

供試したのはトウモロコシ（品種：デント TH472）、コムギ（品種：農林 61 号）、オオムギ（品種：シュンライ・アサカゴールド）

である。これら植物の種子を2日間催芽させてから、 $AlCl_3$  を含む水溶液中で7日間水耕栽培した。その結果、いずれの植物種・品種においても、 $10 \mu M$  以上の  $AlCl_3$  を供与した場合に対照区 ( $0 \mu M$ ) と比較して有意に根の伸長阻害を確認できた（図1）。エリオクロムシアン R 染色液 ( $0.1\% w/v$ ) で確認したところ、根端へのアルミニウム集積が明らかであった（図1）。

適度に希釈した墨汁をシャーレに入れ、その中に供試植物の根端を取り、デジタルマイクロスコープで根端ムシレージを観察した。その結果、トウモロコシのムシレージは容易に観察することができ、以後の本実験ではトウ

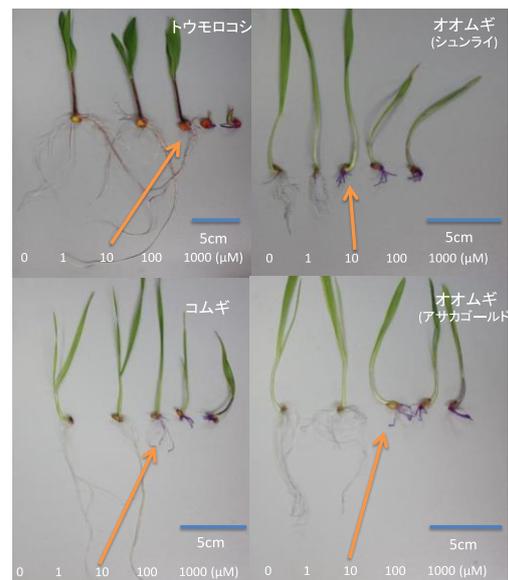


図1 供与した  $AlCl_3$  濃度に対する供試植物の応答

モロコシを供試することにした。

播種後2日目のトウモロコシを水耕または砂耕（根域を砂で支持した水耕）で7日間育成した。水耕・砂耕いずれも使用した水耕液は同一であり、その違いは根に対する物理的刺激的の有無である。用いた水耕液（pH5.0）には  $\text{AlCl}_3$  濃度を  $0\sim 1000\mu\text{M}$  の間で5段階設け、常時エアレーションを施して酸素欠乏を防止した。7日間の育成後にサンプリングし、総根長、総根端数、アルミニウム集積根端数を調査した。

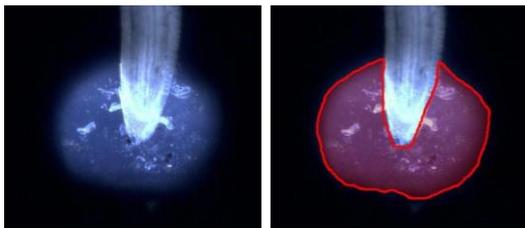


図2 墨汁内で観察したムシレージ（左）と断面積の計測（右の赤線）

次に、 $\text{AlCl}_3$  を含まない水耕液（pH5.0）を用いて、播種後2日目のトウモロコシを水耕または砂耕条件で7日間育成した。その後、個体毎に全ての根端を切り取って回収し、墨汁内でムシレージの有無やその断面積を計測した（図2）。さらに回収した根端を、1）ムシレージ無し、2）ムシレージ有りに区別し、そして、3）2）からムシレージを除去した根端を含めた3つに分類した。ムシレージ除去処理は、根端を傷つけないように注意しながら濾紙を用いて行った（図3）。それぞれに分類した根端を、 $1000\mu\text{M}$  の  $\text{AlCl}_3$  水溶液（pH5.0）に10分間浸漬した後、根端へ

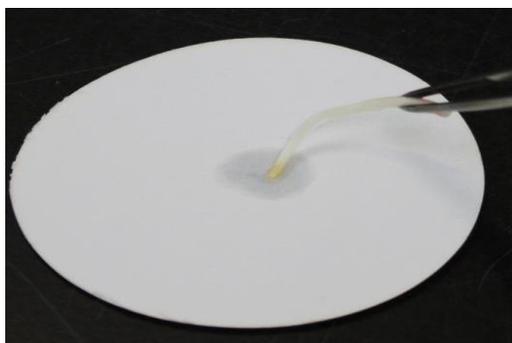


図3 ムシレージ除去処理

のアルミニウム集積を観察した。また、3）

の根端を除去直後から60分後までの間を連続観測し、ムシレージの再分泌能を調査した。

#### 4. 研究成果

アルミニウムは根端に特異的に集積して根の伸長を強く阻害する。アルミニウムストレスの典型的な症状は根の伸長阻害である。水耕と砂耕で育成したトウモロコシで、アルミニウムストレス症状がどのように異なるかを調べた結果、ストレスを誘導するのに必要な  $\text{AlCl}_3$  濃度に大きな違いが見出された（図4）。すなわち、水耕条件では少なくとも  $10\mu\text{M}$  濃度の  $\text{AlCl}_3$  を供与ですでに明らかな根の伸長阻害を確認できたのに対し、根への物理的抵抗が生じる砂耕条件においては  $10\mu\text{M}$  濃度ではその症状を全く観察できなかった。さらに100倍も高い濃度（ $1000\mu\text{M}$ ）でようやくわずかな伸長阻害が観察されたが、その阻害は対照区（ $0\mu\text{M}$ ）との比較で有意な変化ではなかった（ただし、根端数は有

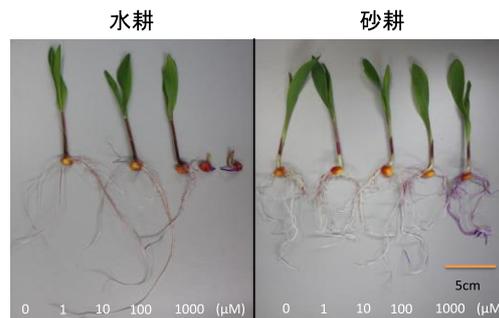


図4 水耕・砂耕条件の違いによるアルミニウム障害発現の比較

意に減少）。

個体当たりの総根端数に占めるアルミニウム集積根端数の割合をみると、水耕ではやはり  $10\mu\text{M}$  濃度の  $\text{AlCl}_3$  供与で半数以上の根端にアルミニウムが集積し、 $100\mu\text{M}$  以上の濃度ではほぼ全ての根端で集積が認められた。ところが同じトウモロコシでも砂耕で育成した場合には、 $10\mu\text{M}$  濃度の  $\text{AlCl}_3$  を供与しても根端へのアルミニウム集積は皆無であり、 $100\mu\text{M}$  濃度でもわずか数%の根端においてのみ集積を確認できる程度であった（対照の  $0\mu\text{M}$  とは有意差なし）。さらに高濃度の  $1000\mu\text{M}$  において、ようやく30%程度の根端に集積を確認できるようになった（対

照の 0  $\mu\text{M}$  と有意差あり)。

これらの結果から、トウモロコシにアルミニウムストレスを誘導するのに、砂耕では水耕の 100 倍以上高い濃度の  $\text{AlCl}_3$  供与が必要となることを確認した。この差異が根端粘液物質 (ムシレージ) によるのかを明らかにするために、水耕と砂耕でムシレージ分泌に違いがあるかどうかを調査した。

$\text{AlCl}_3$  を供与せずに水耕・砂耕で育成したトウモロコシの根端を採取し、個体当たりの総根端数に占めるムシレージ付着根端数の割合を調査した。その結果、水耕では約 60% の根端にムシレージが付着していたが、砂耕では約 90% の根端でムシレージが確認できた。さらに、個々のムシレージを量的に評価するためにその断面積を調査した結果、水耕に比べて砂耕条件の根端ではムシレージ断面積約 2 倍高いことがわかった。つまり、水耕条件ではムシレージを付着していた根端の数も少なく、また根端当たりの粘液量も少ないこと、一方砂耕では、ほとんどの根端に多量のムシレージが付着していた結果となった (図 5)。これらの結果から、水耕と砂耕では根端からのムシレージ分泌能に違いがあることが明らかとなった。

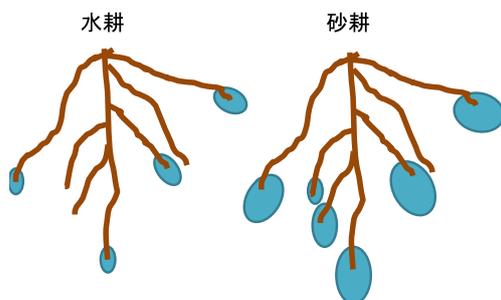


図 5 水耕・砂耕条件におけるムシレージ分泌能の差異 (模式図)

次に、ムシレージ分泌能の違いが根端へのアルミニウム集積に与える影響を評価した。水耕と砂耕のそれぞれで生育させたトウモロコシから根端を採取し、ムシレージを分泌していなかった根端、ムシレージを分泌していた根端、さらにもともとはムシレージを分泌していた根端からムシレージを除去した根端、の 3 つに分類した。そして、これらの

根端を 1000  $\mu\text{M}$  濃度の  $\text{AlCl}_3$  水溶液に 10 分間浸漬した後にアルミニウム集積を比較した。その結果、水耕・砂耕による根端へのアルミニウム集積の変動は 5% レベルで有意性を検出できなかったが ( $P=0.0763$ )、ムシレージ処理 (3 つに分類した根端) による変動が有意に検出された ( $P=0.0498$ )。すなわち、ムシレージを分泌していなかった根端の約 50% がアルミニウムを集積したのに対して、もともとムシレージを分泌していた根端 (ムシレージ除去処理の有無に関わらず) での集積は約 30% 程度にまで低下した。この結果は、ムシレージの付着量というよりも、その根端が本来ムシレージを分泌する能力が高いかどうかで、アルミニウム集積が左右されることを示唆している。

次に、一度ムシレージを除去した根端が再分泌する様子を連続的に観測した。その結果、ムシレージを除去した 5 分後にはすでに根端でムシレージの回復を確認できるようになり、観測終了の 60 分後まで継続して再分泌される様子を捉えることに成功した。おそらくこの素早いムシレージの回復のために、ムシレージ除去処理の有無で根端へのアルミニウム集積に違いを確認できなかったのだと考えられる。

本研究の目的は、1) 根に対する物理的刺激の大小で根端粘液物質 (ムシレージ) の分泌量が増加するか、2) その変化が根端へのアルミニウム集積に影響を与えるか、3) その結果植物のアルミニウムストレスが軽減されるか、の 3 つを検証することであった。結果に基づく本研究の結論は、次の通りである。

- 1) 根に対する物理的刺激が存在すると、根端当たりの粘液物質 (ムシレージ) の分泌量が増加するだけでなく、分泌能を有する根端の数も増加する。
- 2) 物理的刺激を介したムシレージ分泌能の促進は、根端へのアルミニウム集積を抑制する。
- 3) トウモロコシ根に対する物理的刺激はアルミニウムストレス軽減に有効である。

現在得られた成果を取りまとめて、投稿論文を執筆作成中である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

(1) 矢野勝也、関谷信人、作物の生理生態研究ツールとしての安定同位体：水素，炭素，窒素、日本作物学会紀事、査読有、81 巻、2012、pp460-465

(2) Nobuhito Sekiya, Ryosuke Fukujyu, Katsuya Yano, Effects of Seed P-enrichment and localized P-fertilizer application on soil-grown wheat, Plant Production Science, 査読有, vol.16, 2013, pp 199-202

(3) Takeshi Watanabe, Hiroaki Sumida, Do Minh NHUT, Katsuya Yano, Susumu Asakawa, Makoto Kimura, Bacterial consortia in iron-deposited colonies formed on paddy soil surface under microaerobic condition, Soil Science and Plant Nutrition, 査読有, 2013 (in press)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

矢野 勝也 (YANO KATSUYA)

名古屋大学・大学院生命農学研究科・准教授

研究者番号：00283424

(2) 研究分担者

研究分担者なし ( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

連携研究者なし ( )

研究者番号：